

"مقاله پژوهشی"

تأثیر مکمل غذایی ملاس بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) در مواجهه با نانوذرات اکسید تیتانیومروح ا. شیخ ویسی^۱، سید علی اکبر هدایتی^{۱*}، محمد مازندرانی^۱، علی جافر نوده^۱، طاهره باقری^۲

۱- گروه شیلات، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- مرکز تحقیقات ذخایر آبزیان داخلی، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، ترویج و آموزش کشاورزی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۲۸

چکیده

استفاده از مکمل‌های غذایی در بالا بردن ایمنی مصرف‌کنندگان آبزیان نقش اساسی دارد. از طرفی وجود نانوذرات بر وضعیت فیزیولوژیک ماهیان اثرگذار بوده و باعث کاهش عملکرد ایمنی ماهیان می‌شود. از این رو، احتمالاً استفاده از محرک‌های ایمنی نظیر ملاس بسیار ضروری به نظر می‌رسد. تحقیق حاضر جهت ارزیابی شاخص‌های خون‌شناسی ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) تغذیه شده با ملاس در مواجهه با نانوذرات تیتانیوم صورت گرفت. بر این اساس تعداد ۲۵۰ قطعه بچه‌ماهی کپور معمولی با میانگین وزنی 20 ± 0.62 گرم در چهار تیمار شامل، جیره فاقد ملاس (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد ملاس (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد ملاس (تیمار ۳) و جیره حاوی ۲ درصد ملاس (تیمار ۴) تقسیم و به مدت ۴۲ روز مورد تغذیه قرار گرفتند. در پایان دوره تغذیه به هر کدام از تیمارها ۵۰ درصد غلظت کشنده نانو تیتانیوم به مدت چهارده روز اضافه شد. نمونه‌برداری از خون جهت سنجش شاخص‌های خونی در پایان دوره آزمایش انجام شد. طبق نتایج تحقیق حاضر با افزایش میزان ملاس در جیره غذایی تعداد گلبول‌های سفید افزایش معنی‌داری یافت و هم‌چنین در تیمارهای ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار داشتند، هم افزایش معنی‌دار را نشان داد هم‌چنین تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با ملاس افزایش پیدا کرد و با افزایش غلظت ملاس در جیره این روند افزایشی بوده و با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). نتیجه‌گیری کلی این پژوهش نشان داد که میزان مونوسیت خون در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس، کاهش یافت. یعنی ملاس در ترکیب با نانو تیتانیوم توانسته تغییرات ناخواسته را بهبود بخشد. هم‌چنین، تعداد لنفوسیت خون در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس افزایش یافت؛ یعنی ملاس در ترکیب با نانو تیتانیوم توانسته اثر کاهشی نانو تیتانیوم را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: بهبود مقاومت، آبی‌پروری، نانو ذرات فلزی، ملاس، خون‌شناسی

*عهده‌دار مکاتبات: hedayati@gau.ac.ir

مقدمه

توسعه سریع نانو و نانوتکنولوژی در سال‌های اخیر افق جدیدی به روی بسیاری از صنایع و بخش‌های مختلف گشوده که سرچشمه انقلاب صنعتی جدید گردیده است. در سال‌های اخیر نانوتکنولوژی تبدیل به یکی از مهم‌ترین و مهیج‌ترین حوزه‌های رو به پیشرفت در فیزیک، شیمی، علوم مهندسی و زیست‌شناسی شده است. ذرات نانو به خاطر خصوصیت‌های غیر معمول نوری، شیمیایی، فوتوالکتروشیمیایی و الکتریکی، مورد توجه دانشمندان هستند (Gong et al., 2007). در بین نانوذرات، دی اکسید تیتانیوم (TiO₂-NPs) به وفور تولید شده و به طور گسترده‌ای به دلیل پایداری بالا، ضد خوردگی و قابلیت فوتوکاتالیستی آن استفاده می‌شود (Hao et al., 2012). گزارش شده است که نانوذرات دی اکسید تیتانیوم اثرات سمی زیادی، از جمله التهاب، سمیت سلولی و ناپایداری ژنومی در پستانداران، گیاهی و میکروارگانیسم را باعث می‌شوند (Li et al., 2008). همچنین این نانوذرات ممکن است خطرات قابل توجهی را برای موجودات آبی در بر داشته باشند (Handy et al., 2008). به طوری که، اثرات سمی شناخته شده در نانوذرات دی اکسید تیتانیوم سبب افزایش نگرانی در خصوص موجودات آبی مانند ماهی، شده است (Hao et al., 2012). ملاس چغندر قند یک شیرین کننده است که به عنوان یک محصول جانبی از فرایند ساخت قند تشکیل می‌شود. ملاس انواع مختلفی دارد که نوع black strap معمول‌ترین شکل ملاس است و شامل بسیاری از ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد. ملاس چغندر قند به عنوان یک منبع غنی از ساکارز است (Soder et al., 2010). ملاس چغندر قند به عنوان یک محصول خوش طعم و سرشار از انرژی

برای نشخوارکنندگان است که در ایران تولید این محصول ۴۸۰ هزار تن در سال است (Moossavi et al., 2007). همچنین بهبود در عملکرد دستگاه گوارش در قابلیت هضم مواد آلی با جایگزینی ملاس به جای جو در جیره غذایی گاو گزارش داده شده است (Huhtanen, 1998). بتائین یکی از ترکیبات چغندر است که به عنوان یک محصول جانبی در طی تولید قند تولید می‌شود، بتائین در سوخت و ساز چربی از طریق نقش آن در سنتز فسفاتیدیل کولین و در اکسیداسیون اسیدهای چرب کاربرد دارد (Diane et al., 2003). در تحقیقی بیگی (۱۳۹۷)، تأثیر سطوح مختلف ملاس چغندر (beet molasses) بر برخی شاخص‌های ایمنی موکوس، رشد و بقاء در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) پرداخت و دریافت که ملاس باعث بهبود شاخص‌های رشد و ایمنی ماهی می‌گردد.

کپور معمولی (*C. carpio*) از رده ماهیان استخوانی و متعلق به خانواده کپورماهیان (Cyprinidae) است و در تمام حوضه‌های آبریز ایران پراکنش دارد (ستاری، ۱۳۸۲) و یکی از مهم‌ترین ماهیان پرورشی و تجاری در دنیا و ایران محسوب می‌گردد.

با توجه به این که نگرانی فزاینده ایمنی نانوذرات و مسئله سمیت آن‌ها وجود دارد، در کنار تمامی مزایای خاص حاصل از نانوذرات، به خطر ساز بودن آن‌ها برای موجودات زنده هم باید توجه داشت و نباید با مشاهده برخی دستاوردهای فناوری نانو از مضرات احتمالی آن چشم پوشی کرد (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). در تحقیق حاضر، به بررسی اثرات نانو ذرات دی-اکسید تیتانیوم بر ماهی کپور معمولی پرداخته شد و این

فرضیه که احتمال کاهش اثرات نانوذرات با مکمل ملاس وجود دارد، نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به مدت ۶۳ روز در مرکز تحقیقات آبی پروری شهید ناصر فضلی برآبادی گروه شیلات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی، انجام گردید. ابتدا تعداد ۲۵۰ بچه ماهی کپور معمولی با محدوده وزنی حدود 20 ± 0.62 گرم از مراکز تکثیر و پرورش بخش خصوصی تهیه گردید. بعد از ضدعفونی و آماده‌سازی آکواریوم‌ها، آبیگری آنها صورت گرفت. سپس به آکواریوم‌های آزمایشگاه منتقل شدند. برای سازگار شدن با محیط آزمایش به مدت یک هفته در داخل مخازن پرورشی نگهداری شدند. در طی دوره‌ی آزمایش فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی آب اندازه‌گیری شد که شامل دمای آب 21 ± 1 درجه سانتی‌گراد، $6.7 - 7.9$ pH، غلظت اکسیژن محلول: $7 - 6$ میلی‌گرم در لیتر و سختی آب: 210 میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر بود. بعد از گذشت یک هفته از دوره سازگاری، آزمایش در قالب ۴ تیمار و هر تیمار با ۳ تکرار شامل: جیره فاقد ملاس (تیمار ۱)، جیره حاوی ۰/۵ درصد ملاس (تیمار ۲)، جیره حاوی ۱ درصد ملاس (تیمار ۳) و جیره حاوی ۲ درصد ملاس (تیمار ۴) انجام شد (بیگی، ۱۳۹۷). ماهی‌ها روزانه به میزان ۳ درصد وزن بدن و دو بار در روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. بعد از گذشت ۴۲ روز، از هر تکرار ۳ نمونه ماهی خون گرفته شد و به صورت "بدون سم" در نتایج ارائه گردید. LC_{50} 96h بر طبق منابع موجود نانو تیتانیوم، بچه‌ماهیان در مجاورت ۵۰ درصد غلظت

کشنده نانوذرات تیتانیوم به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند (هدایتی و همکاران، ۱۳۹۲). بعد از گذشت ۱۴ روز، از هر تکرار، ۳ نمونه ماهی خون گرفته شد و به صورت "با سم" در نتایج ارائه گردید. خون‌گیری با استفاده از سرنگ از ماهی (از ورید ساقه‌دمی) صورت گرفت (Fiess *et al.*, 2007). پس از خون‌گیری، خون به ویال‌های ۱/۵ سی سی منتقل شد. ویال‌ها در مجاورت یخ، جهت تعیین میزان هموگلوبین، درصد هماتوکریت، MCH، MCHC، MCV، شمارش افتراقی گلبول‌های سفید، مقادیر گلبول‌های قرمز و سفید خونی داخل لوله هپارینی جداگانه نگهداری و شاخص‌های مورد نظر سنجیده شد. شمارش تعداد گلبول‌های قرمز و سفید با استفاده از لام نئوبار و برای شمارش افتراقی پس از تهیه گسترش مناسب از خون، گسترش‌ها به روش گیمسا رنگ آمیزی شدند. هموگلوبین به روش سیان مت هموگلوبین با اسپکتروفتومتر سنجیده شد. درصد هماتوکریت نمونه‌های خون، پس از سانتریفوژ کردن با میکروسانتریفیوژ تعیین گردید، در این روش لوله‌های هماتوکریت در شیارهای مخصوص در دستگاه میکرو سانتریفیوژ قرار گرفت به طوری که انتهای مسدود لوله به سمت خارج از مرکز و کاملاً در تماس با محیط محوطه سانتریفیوژ بود. سپس درپوش را قرار داده، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند (Lee *et al.*, 2006). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید (بیگی، ۱۳۹۷).

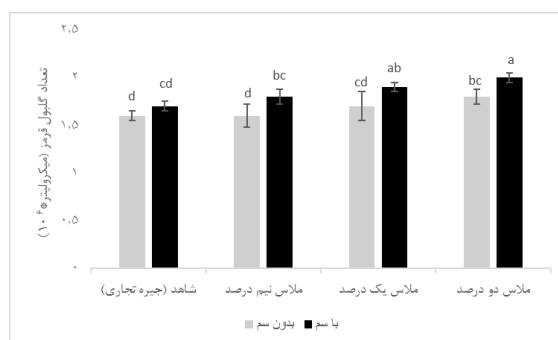
جدول ۱: ترکیبات اصلی ملاس چغندر (بیگی، ۱۳۹۷)

۱. قندها	گلوکز و ساکاروز
۲. آمینواسیدها	بتائین، پیروگلوتامیک اسید، گلوتامین، آسپاراژین، ایزولوسین، تیروزین، آلانین، لوسین، والین، سرین، لیزین، گلايسين، آرژنین، فنیل آلانین، ترئونین
۳. اسیدهای آلی	اسید لاکتیک، اسید استیک، فرمیک اسید، اسید مالیک، اسید سیتریک
۴. مواد معدنی	پتاسیم، سدیم، فسفر، کلسیم

نتایج

نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند، به طور معنی داری افزایش یافت. میزان گلبول قرمز خون در تیمار تغذیه شده با ملاس نیم و یک درصد و در تیمار نانو تیتانیوم نیز اثر افزایشی داشت. ولی با گروه شاهد معنی دار نبود (شکل ۱).

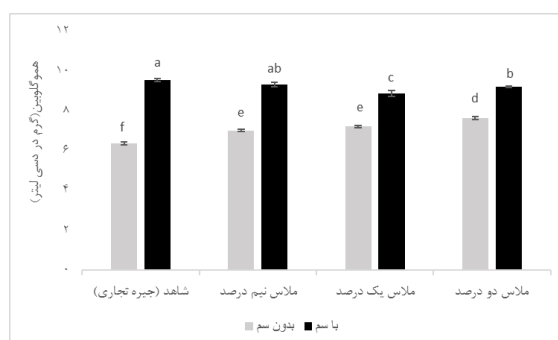
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص تعداد گلبول قرمز خون تأثیر معنی داری داشت ($p < 0.05$). به طوری که، میزان گلبول قرمز خون در تیمار تغذیه شده با ملاس دو درصد و در تیمارهای حاوی ملاس که در مواجهه با



شکل ۱. تعداد گلبول قرمز خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است

شده با ملاس، تیمار نانو تیتانیوم و هم چنین در تیمارهای حاوی ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند، به طور معنی داری افزایش یافت (شکل ۲).

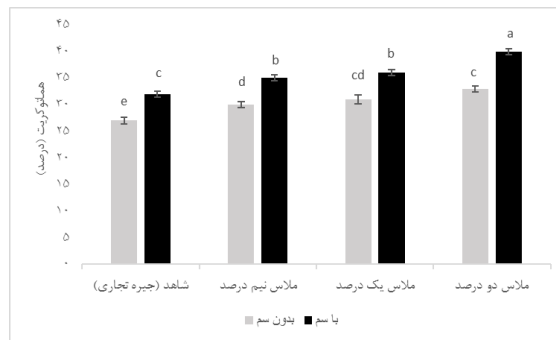
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص هموگلوبین خون تأثیر معنی داری داشت ($p < 0.05$), به طوری که، میزان هموگلوبین خون در تیمارهای تغذیه



شکل ۲. میزان هموگلوبین خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

شده با ملاس، تیمار نانو تیتانیوم و هم‌چنین در تیمارهای حاوی ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳).

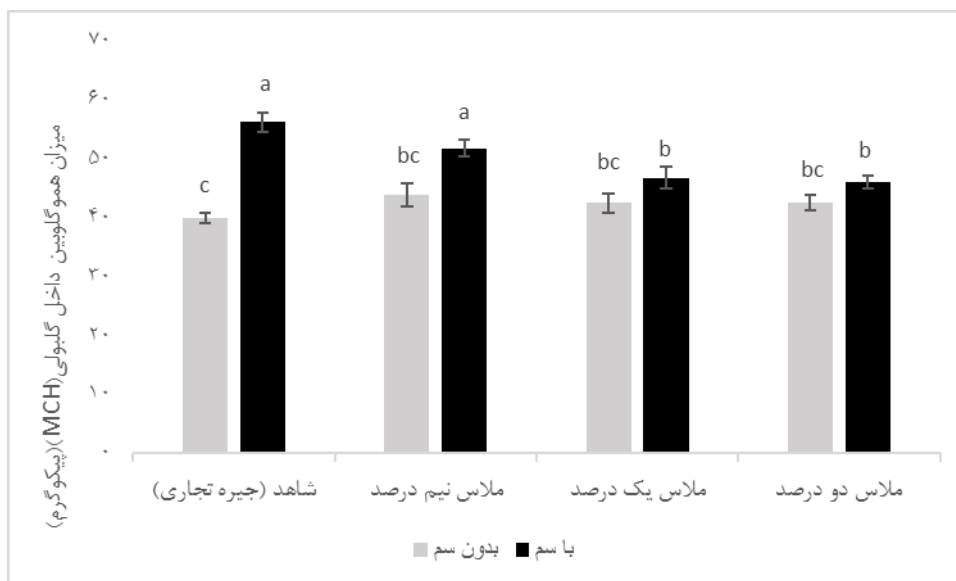
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص هماتوکریت خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که، میزان هماتوکریت خون در تیمارهای تغذیه



شکل ۳. میزان هماتوکریت خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

تغذیه شده با ملاس افزایش یافت. ولی با گروه شاهد معنی‌دار نبود. میزان MCH خون در تیمار نانو تیتانیوم و هم‌چنین در تیمارهای حاوی ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$) (شکل ۴).

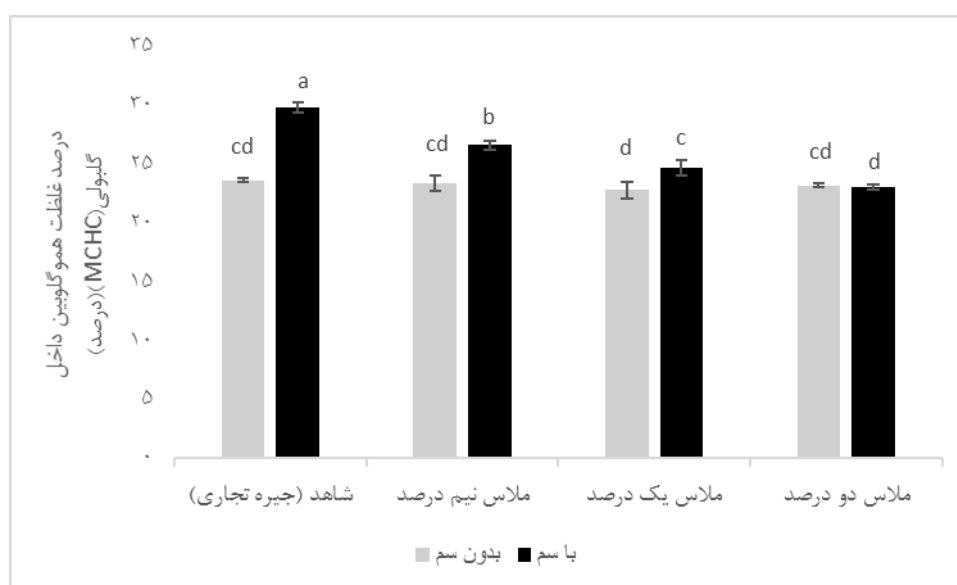
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCH خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که بیشترین میزان MCH خون در تیمار شاهد در مواجهه با نانو تیتانیوم و نیم درصد تغذیه شده با ملاس در مواجهه با نانو تیتانیوم مشاهده گردید و کمترین آن در تیمار شاهد بود. میزان MCH خون در تیمارهای



شکل ۴. میزان هموگلوبین داخل گلبولی (MCH) خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

نانو تیتانیوم و هم‌چنین در تیمارهای حاوی ملاس نیم و یک درصد که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان MCHC خون در تیمارهای حاوی ملاس دو درصد که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند اثر کاهشی با گروه شاهد و گروه هم نوع خود داشت (شکل ۵).

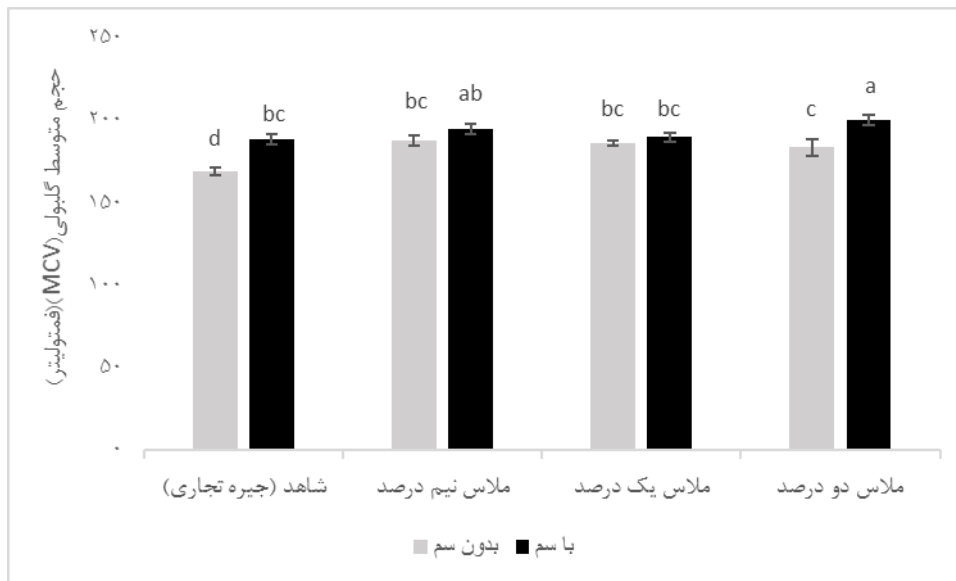
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCHC خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که بیشترین میزان MCHC خون در تیمار شاهد در مواجهه با نانو تیتانیوم مشاهده گردید و کمترین آن در تیمار یک درصد ملاس بود. میزان MCHC خون در تیمارهای تغذیه شده با ملاس کاهش یافت ولی با گروه شاهد معنی‌دار نبود، میزان MCHC خون در تیمار



شکل ۵. میزان MCHC خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

تیمارهای تغذیه شده با ملاس، تیمار نانو تیتانیوم و هم‌چنین در تیمارهای حاوی ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار گرفته بودند، بطور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۶).

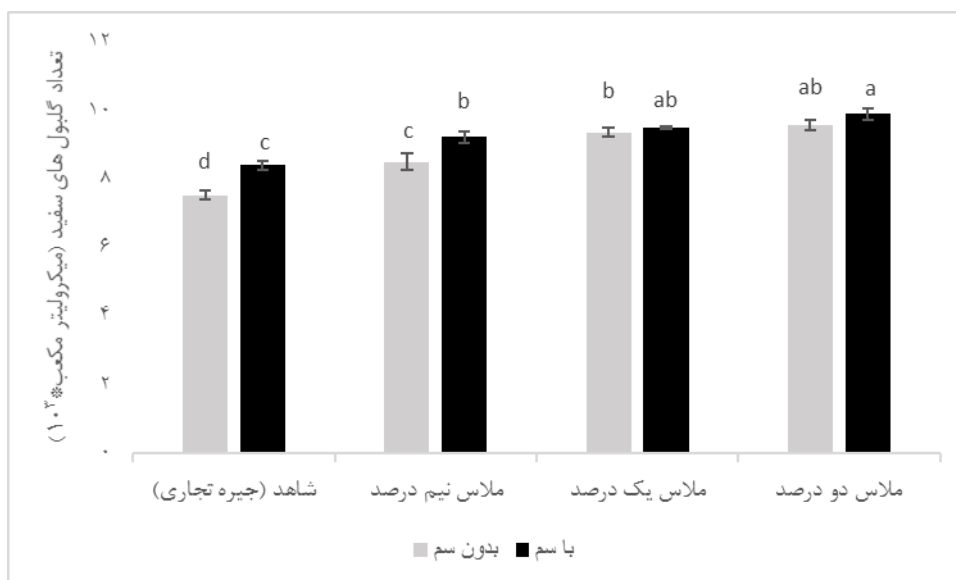
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص MCV خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که بیشترین میزان MCV خون در تیمار دو درصد در مواجهه با نانو تیتانیوم و کمترین آن در تیمار شاهد بدون نانو تیتانیوم مشاهده گردید. میزان MCV خون در



شکل ۶. میزان MCV خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

میزان این شاخص نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، میزان این شاخص در تیمار در معرض نانو تیتانیوم و در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس نیز بطور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۷).

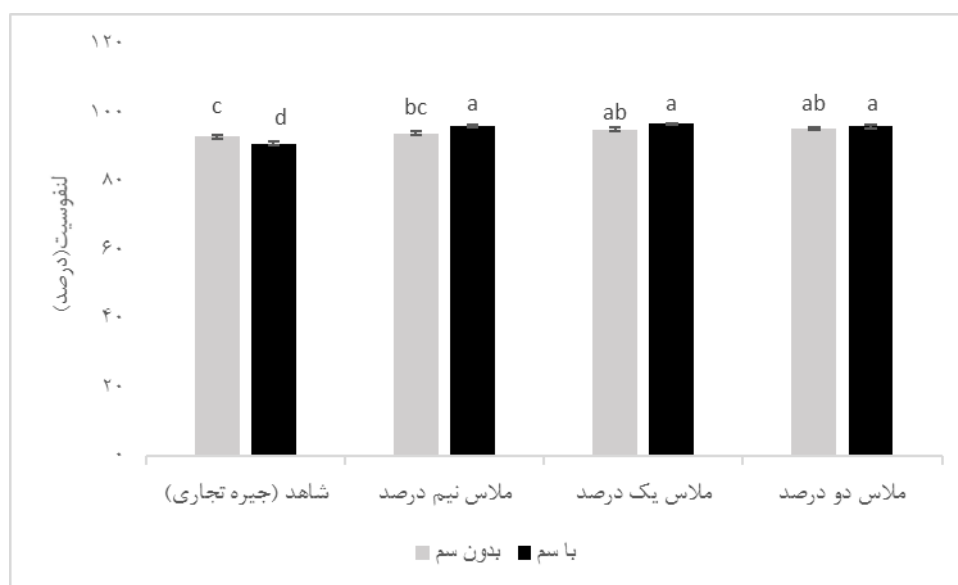
بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص تعداد گلبول سفید خون تاثیر معنی‌داری داشت ($P < 0.05$)، به طوری که میزان گلبول سفید خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس،



شکل ۷. میزان گلبول سفید خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

معرض نانو تیتانیوم کاهش معنی‌دار داشت، ولی در تیمارهای ملاس و در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت یعنی ملاس در ترکیب با نانو تیتانیوم توانسته اثر کاهشی نانو تیتانیوم را بهبود ببخشد (شکل ۸).

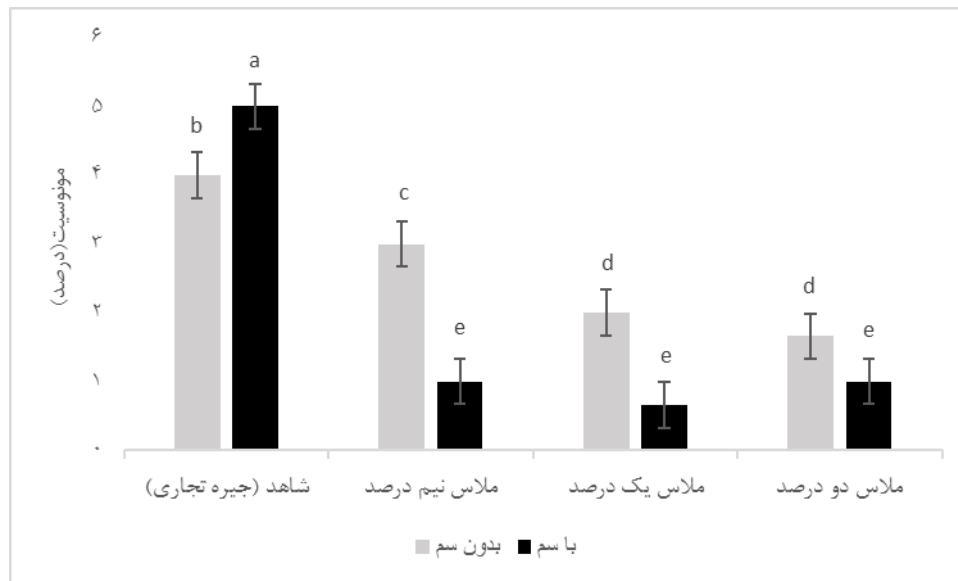
نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص لنفوسیت خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که بیش‌ترین میزان لنفوسیت‌ها در تیمار تغذیه شده با ملاس یک درصد در مواجهه با نانو تیتانیوم، و کم‌ترین تعداد لنفوسیت‌ها در تیمار شاهد در مواجهه با نانو تیتانیوم یافت شد. میزان این شاخص در تیمار در



شکل ۸. میزان لنفوسیت خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

داری کاهش یافت، میزان این شاخص در تیمار نانو تیتانیوم (تیمار شاهد سم خورده) افزایش یافت. ولی در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس، تعداد مونوسیت خون کاهش یافت (شکل ۹).

بررسی تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که تیمارهای آزمایشی بر شاخص مونوسیت خون تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/05$)، به طوری که میزان مونوسیت خون در اثر تیمارهای تغذیه شده با ملاس با افزایش غلظت ملاس میزان این شاخص به‌طور معنی-



شکل ۹. میزان مونسیت خون ماهی کپور معمولی در تیمارهای مختلف آزمایشی. حروف انگلیسی متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ بین تیمارهای آزمایشی است.

بحث

استفاده کرد. به دلیل ارتباط سیستم گردش خون و محیط خارجی، متغیرهای خون‌شناسی برای تشخیص اثرات مواد تنش‌زا و سمی می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (Mekkawy *et al.*, 2011). تغییر در شاخص‌های خون و تخریب اندام‌های خون‌ساز در ماهی ممکن است به دلیل شرایط محیط یا آلودگی آب‌ها یا هر دو باشد (Mekkawy *et al.*, 2011). فاکتورهای سلولی در خون (تعداد گلبول‌های قرمز و سفید و شمارش افتراقی گلبول‌های سفید) شاخص‌های مفیدی در واکنش‌های حاصله از تنش‌های خارجی هستند که در نهایت سبب تغییرات مورفولوژیکی و توزیع سلولی در خون می‌شوند (Srivastava and Choudhary, 2010).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین در تیمارهای تغذیه شده با ملاس افزایش پیدا کرد و با افزایش غلظت ملاس در جیره این روند افزایشی بوده و با گروه شاهد

امروزه استفاده از گیاهان دارویی به صورت فرآورده‌های گیاهی و یا عصاره تام در تمام دنیا رایج است و توجه خاص به گیاه درمانی در علوم مختلف رو به افزایش می‌باشد. هر چند که اثرات سودمند و تأثیرگذار محرک‌های گیاهی بر شاخص‌های خونی و ایمنی ماهیان گزارش شده است (Lim *et al.*, 2000). اما محققین آبی‌پروری برای رسیدن به اطلاعات جامع و کاربردی، نیازمند بررسی اثرات انواع گیاهان دارویی می‌باشند. شاخص‌های خونی ماهیان به عوامل مختلفی از قبیل گونه، اندازه، سن، وضعیت فیزیولوژیکی، شرایط محیطی، رژیم غذایی (کمیت و کیفیت غذا، مواد تشکیل دهنده جیره، منابع پروتئینی، ویتامین‌ها و محرک‌های رشد) بستگی دارد (Lim *et al.*, 2000). به نظر می‌رسد که از شاخص‌های خون‌شناسی، تغییرات زیست‌شیمیایی، نرخ رشد و میزان مصرف اکسیژن ماهی می‌توان در تشخیص میزان سمیت آلاینده‌ها

کرات توصیه شده‌اند (فدایی راهنی و سپاهی، ۱۴۰۲، تقیان و همکاران، ۱۴۰۲). از آنجایی که، یکی از اهداف استفاده از عصاره‌های گیاهی تحریک سیستم ایمنی است و یکی از مسیرهای تحریک سیستم ایمنی افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌باشد، در واقع استفاده از ملاس که یک نوع عصاره گیاهی است، توانسته سیستم ایمنی بچه ماهیان را به‌خصوص در تیمارهای با غلظت بیشتر ملاس تحریک کند. در این بین لنفوسیت‌ها مهمترین سلول گلبول‌های سفید می‌باشند که در سیستم ایمنی نقش فعال دارند. از طرفی دیگر، در تیمارهای ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار داشتند، هم این افزایش معنی‌دار بود که به نظر می‌رسد ماهیانی که از ملاس استفاده کردند، به‌علت تحریک سیستم ایمنی آن‌ها وقتی در مواجهه با نانو تیتانیوم که یک عامل استرس‌زا می‌باشد، توانسته ایمنی خود را حفظ و با آن به مقابله پردازد. همان‌طور که گفته شد گلبول‌های سفید نقش مهمی در ایمنی غیراختصاصی ایفا می‌کنند و تعداد آن‌ها شاخصی از میزان سلامتی در ماهیان است. مطابق نتایج تحقیق حاضر، در تحقیقی افزایش تعداد گلبول‌های سفید خون موش‌های تزریق شده با نانوذرات نقره گزارش شده است (Naghsh *et al.*, 2012). تغییرات ناشی از تنش می‌تواند تعادل هموستازی را به هم زده و منجر به نابسامانی‌هایی در سیستم ایمنی بدن شود. در بسیاری از موارد، تنش‌های فیزیولوژیک می‌تواند منجر به کاهش تعداد لنفوسیت‌ها شود (Pickering, 1981) که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

اختلاف معنی‌دار داشت. مطالعات مختلف افزایش قابل توجه اریتروسیت‌ها، هموگلوبین و سطوح هماتوکریت را در ماهیان تیمار شده با عصاره‌های گیاهی در مقایسه با گروه شاهد را نشان داده است (Harikrishnan *et al.*, 2012). تحت شرایط استرس‌زا، گلبول‌های قرمز نابالغ از طحال آزاد شده و با افزایش متابولیسم، اکسیژن-رسانی به اندام‌های مهم افزایش می‌یابد که به دنبال آن گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین و سطح هماتوکریت افزایش می‌یابد (Shalvei *et al.*, 2012). بررسی اثر نانوذرات نقره و نیترات نقره بر گربه ماهی رنگین کمان (*Pangasianodon hypophthalmus*) نشان داد که در روز اول میزان هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول قرمز در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (رزم‌آرا و همکاران، ۱۳۹۳). هم‌چنین نانوذرات آهن سبب ایجاد تفاوت معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین خون تیلاپیا شد (Chae *et al.*, 2009). که مطابق نتایج تحقیق حاضر می‌باشد

طبق نتایج تحقیق حاضر با افزایش میزان ملاس درجیره غذایی تعداد گلبول‌های سفید افزایش معنی‌داری یافت و هم‌چنین در تیمارهای ملاس که در مواجهه با نانو تیتانیوم قرار داشتند، هم افزایش معنی‌دار را نشان داد. عصاره‌های گیاهان دارای اثرات شناخته شده و اثبات شده بر سیستم ایمنی در موجودات مختلف می‌باشند. این اثر به دلیل تحریک ایمنی غیر اختصاصی میزبان تأثیر بر ایمنی سلولی یا ایمنی همورال صورت می‌پذیرد. تاکنون مطالعات فراوانی در خصوص ارتقاء ایمنی در ماهیان به واسطه استفاده از ترکیبات مختلف محرک ایمنی انجام شده که در این میان گیاهان به واسطه اثر مناسب و نداشتن آثار جانبی به-

نتیجه‌گیری

نتایج کلی این پژوهش نشان داد که تعداد مونوسیت خون در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس، کاهش یافت یعنی ملاس در ترکیب با نانو تیتانیوم توانسته اثر افزایشی نانو تیتانیوم را بهبود ببخشد. هم‌چنین میزان لنفوسیت خون در تیمارهای ترکیب نانو تیتانیوم و ملاس افزایش یافت؛ یعنی ملاس در ترکیب با نانو تیتانیوم توانسته اثر کاهش‌ی نانو تیتانیوم را بهبود بخشد.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب رساله دکتری با حمایت‌های مادی و معنوی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان صورت گرفت. از همه‌ی بزرگوارانی که به نحوی در این پژوهش مساعدت نمودند، سپاس‌گزاری می‌نمایم.

منابع

۱. بیگی، م.، ۱۳۹۷. تأثیر سطوح مختلف ملاس چغندر (*Beet molasses*) بر برخی شاخص‌های ایمنی موکوس، رشد و بقاء در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*)، پایان‌نامه کارشناسی ارشد شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ۶۰ ص.
۲. تقیان، ح.، سوداگر، م.، یوسفی، س.، پاکتژاد، ح.، حاجیگللو، ع.، ۱۴۰۲. اثر افزودن عصاره میوه گیاه آقطی (*Sambucus ebulus*) بر عملکرد رشد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم و ارزیابی ژن‌های مرتبط با ایمنی در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) نشریه توسعه آبی پروری، ۱۷ (۱)، ۱۴-۱.

۳. رزم‌آرا، پ.، پیکان حیرتی، ف.، درافشان، س.، ۱۳۹۳. اثر نانو ذرات نقره بر برخی شاخص‌های خون‌شناسی گربه‌ماهی رنگین‌کمان *Pangasianodon hypophthalmus* مجله سلول و بافت، ۵ (۳)، ۲۶۳-۲۷۲.
۴. ستاری، م.، شاهسونی، د.، شفیع‌ی، ش.، ۱۳۸۲. ماهی‌شناسی ۲. نشر حق‌شناس. ۵۹۷ ص.
۵. فدایی رابنی، ر.، سپاهی، ج.، ۱۴۰۲. تأثیر گیاه دارویی بارهنگ (*Plantago major*) بر شاخص‌های رشد، درصد بازماندگی و برخی پارامترهای خون‌شناختی در ماهی‌آمور (*Ctenopharyngodon idella*). نشریه توسعه آبی پروری، ۱۷ (۳)، ۶۲-۴۹.
۶. هدایتی، ع.، جهانبخشی، ع.، قادری رمازی، ف.، ۱۳۹۲. سم‌شناسی آبیان، جلد اول، چاپ اول، ص ۷۰-۷۶.

7. Chae, Y.J., Pham, C.H., Lee, J., Bae, E., Yi, J. Gu, M.B., 2009. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 94, 320-327.
8. Diane, W.C., Ignacio F.F., Erki V., Norman C. S., Thomas, J.C., 2003. Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Susscrofa domestica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 137, 131-140.
9. Fiess, J. C., Kunkel-Patterson, A., Mathias, L., Riley, L. G., Yancey, P. H., Hirano, T., Grau, E. G., 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambiquetilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 146, 252-264.
10. Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., Yang, X., 2007. Preparation and antibacterial activity of Fe₃O₄ Ag

- lysine by *Corynebacterium glutamicum* from different carbon sources. *Iran Agricultural Research*, 26, 99–106.
20. Naghsh, N., Noori, A., Aqababa, H., Amirkhani-Dehkordi, S., 2012. Effect of nanosilver particles on alanin amino transferase (ALT) activity and white blood cells (WBC) level in male wistar rats, *In Vivo* condition. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 14, 34-37.
 21. Pickering, A.D., 1981. Introduction: the concept of biological stress. In: Pickering, A.D. (ed.). *Stress and Fish*. Academic Press. London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco. 367 p.
 22. Shaluei, F., Hedayati A., Jahanbakhshi A., Baghfalaki M., 2012. Physiological responses of great sturgeon (*Huso huso*) to different concentrations of 2-phenoxyethanol as an anesthetic. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), 1627-1634.
 23. Soder, K.J., Hoffman, K., Brito, A.F., 2010. Effect of molasses, corn meal, or a combination of molasses plus corn meal on ruminal fermentation of orchardgrass pasture during continuous culture fermentation. *Professional Animal Scientist*, 26, 167–174.
 24. Srivastava, S., Choudhary, S.K., 2010. Effect of artificial photoperiod on the blood cell indices of the catfish, *Clarias batrachus*. *Journal of Stress-Physiology and Biochemistry*, 6, 22-32.
 - nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(28), 285604.
 11. Handy, R. D., Henry, T.B., Scown, T.M., Johnston, B. D., Tyler, C. R., 2008. Manufactured nanoparticles: their uptake and effects on fish a mechanistic analysis. *Ecotoxicology*, 17, 396–409.
 12. Hao, L., Chen, L., 2012. Oxidative stress responses in different organs of carp (*Cyprinus carpio*) with exposure to ZnO nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 103–110.
 13. Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M.S., 2012. *Inonotus obliquus* containing diet enhances the innate immune mechanism and disease resistance in olive flounder *Paralichthys olivaceus* against *Uronema marinum*. *Fish & Shellfish Immunology*, 32(6), 1148-1154.
 14. Huhtanen, P., 1988. The effects of barley, unmolassed sugar-beet pulp and molasses supplements on organic matter, nitrogen and fiber digestion in the rumen of cattle given a silage diet. *Animal Feed Sciences Technology*, 20, 259–278.
 15. Lee, K. M., Kaneko, T., Katoh, F., Aida, K., 2006. Prolactin gene expression and gill chloride cell activity in fugu *Takifugu rubripes* exposed to a hypoosmotic environment. *General and Comparative Endocrinology*, 149, 285–293.
 16. Li, J.G., Li, Q.N., Xu, G.Y., Li, J., Cai, X.Q., Liu, R.L., 2008. Comparative study on the acute pulmonary toxicity induced by 3 and 20 nm TiO₂ primary particles in mice. *Environmental Toxicity and Pharmacology*, 24, 239–244.
 17. Lim, C., Klesius, P.H., Li, M.H., Robinson, E.H., 2000. Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, 185, 313-327.
 18. Mekkawy, I.A., Mahmoud, U.M., Sayed, A.H., 2011. Effects of 4-nonylphenol on blood cells of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Tissue and Cell Journal*, 43, 223-229.
 19. Moosavi-Nasab, M., Ansari, S., Montazer, Z., 2007. Fermentative production of

Dietary effect of molasses supplement on some hematological indices of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to titanium oxide nanoparticles

Sheikh Veisi, R.¹, Hedayati, A.^{1*}, Mazandarani, M.¹, Jafar Nodeh, A.¹, Bagheri, T.²

1-Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries and Environmental Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

2- Offshore Water Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Chabahar, Iran.

Received: 28 July 2023

Accepted: 20 October 2023

Abstract

The use of dietary supplements plays an essential role in enhancing fish consumer safety. On the other hand, the presence of nanoparticles affects the physiological status of fish and decreases their immune function. Therefore, the use of safety stimuli such as molasses may be necessary. The present study was performed to assess the hematological indices of molasses-fed common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to titanium nanoparticles. Accordingly, 250 fish with a mean weight of 20 ± 0.62 g was divided and fed for 42 days in four treatments, diet without molasses (treatment 1), diet containing 0.5% molasses (treatment 2), 1% molasses (treatment 3) and 2% molasses (treatment 4). At the end of the feeding period, each group received 50% lethal concentration of nano-titanium for 14 days. Blood samples were taken to measure blood levels at the end of the experiment. The results of the present study showed that with increasing molasses diet, the number of white blood cells significantly increased and also in the molasses treatments exposed to nano-titanium, there was also a significant increase in the number of white blood cells. Red blood cells, hematocrit and hemoglobin increased in molasses-fed diets and this trend was increased with increasing molasses concentration in diets and was significantly different from control group ($p < 0.05$). The conclusion of this study showed that blood monocyte levels decreased in nano-titanium and molasses combination treatments. So, molasses in combination with nano-titanium has been able to improve undesirable lesions. Also, the number of blood lymphocytes in nano-titanium and molasses combination treatments increased, which means molasses in combination with nano-titanium could improve the reduction effect of nano-titanium.

Keywords: Aquatic, Hematology, Metal Nanoparticles, Molasses, Resistance Improvement

* Corresponding Author: hedayati@gau.ac.ir